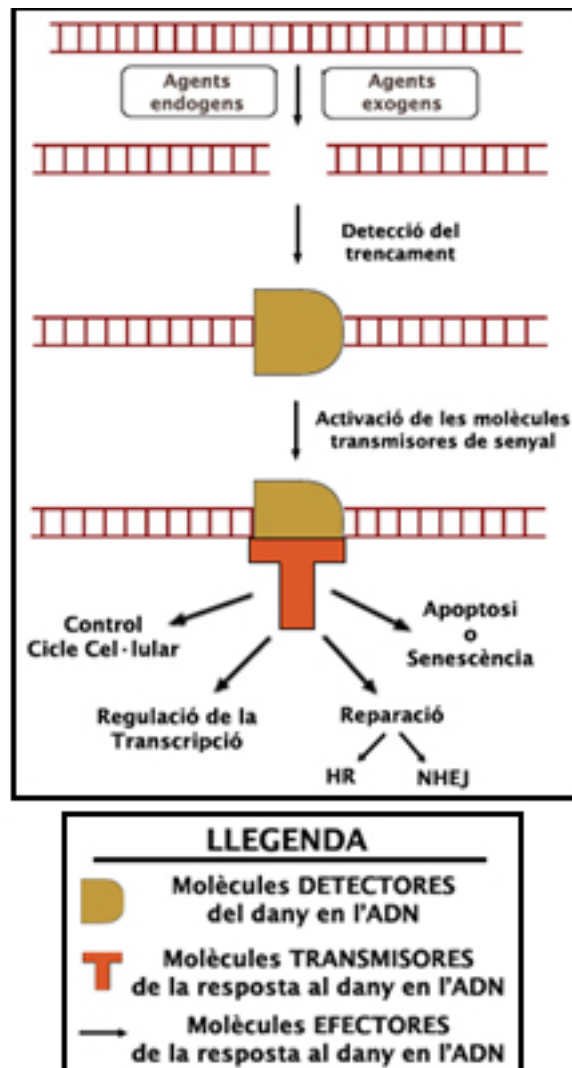


# ATM, la proteïna que regula la reparació de l'ADN

02/2010 - Medicina i Salut.

La presència de lesions o trencaments a l'ADN provoca una resposta del sistema de Detecció i Reparació del Dany (DDR) de la cèl·lula. Aquest sistema posa en marxa una activació en cascada de diferents proteïnes de reparació. ATM és una d'aquestes proteïnes i, és tan important, que la seva absència provoca una síndrome humana anomenada AT (ataxia-telangiectasia). Les cèl·lules deficientes en ATM no reparen la totalitat del dany en el material genètic, que s'acumula durant força temps. Un equip de científics de la UAB ha investigat si la relació entre els baixos nivells d'aquesta proteïna i la persistència de lesions en l'ADN pot deure's a una falta de reparació o a un problema en la detecció dels trencaments.

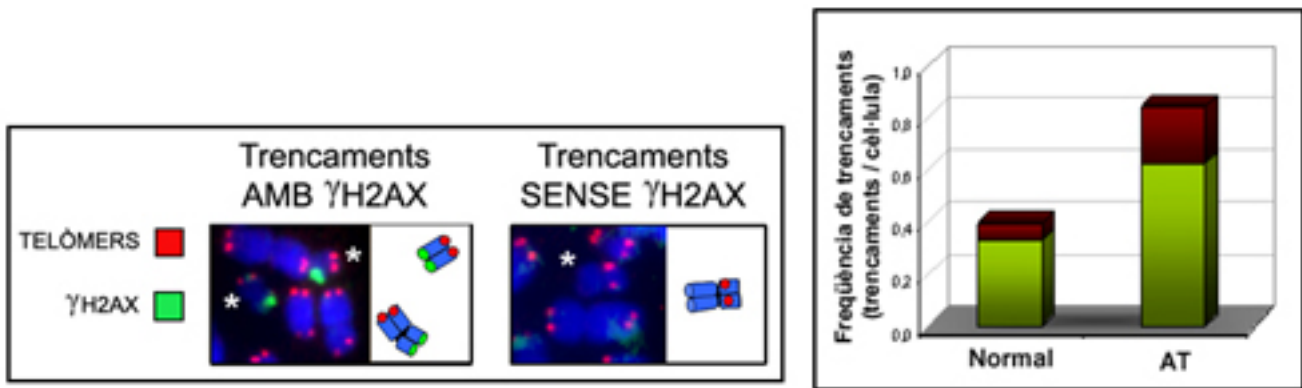


**Esquema 1.- DDR (DNA Damage Response).** Aquesta via de resposta al dany en el DNA actua de forma jeràrquica i piramidal: les proteïnes DETECTORES són les primeres en arribar al lloc del trencament, des d'on recluten les proteïnes TRANSMISSORES del senyal del dany (com per exemple ATM). Aquestes proteïnes al seu torn reclutaran multitud de proteïnes EFECTORES amb diferents funcions, com ara aturar el cicle cel·lular i iniciar la reparació del DNA.

En els organismes eucariotes existeixen mecanismes de detecció i resposta en front al dany en l'ADN. Aquests mecanismes s'engloben en la DDR (DNA Damage Response): una cascada d'activació de proteïnes que es posa en marxa en resposta a la presència de dany i/o trencaments en l'ADN (**Esquema 1**, a l'esquerra). ATM (Ataxia-telangiectasia mutated) és una proteïna essencial en aquesta via, on hi realitza funcions de transmissió de la senyal de dany. En les cèl·lules deficientes en ATM la DDR no funciona correctament, de manera que tenen problemes per reparar la totalitat del dany que els ha estat infringit: una proporció important dels trencaments de l'ADN (aproximadament el 10-15%) romanen sense reparar llarg temps després d'haver estat generats (Kühne et al., 2004), corrent el perill de que finalment es doni una reparació incorrecta. L'absència d'ATM provoca una malaltia anomenada ataxia-telangiectasia (AT) en la que els pacients presenten immunodeficiència i tendència a patir limfomes i leucèmies des de la seva joventut (Gatti et al., 1988) ([més informació](#)).

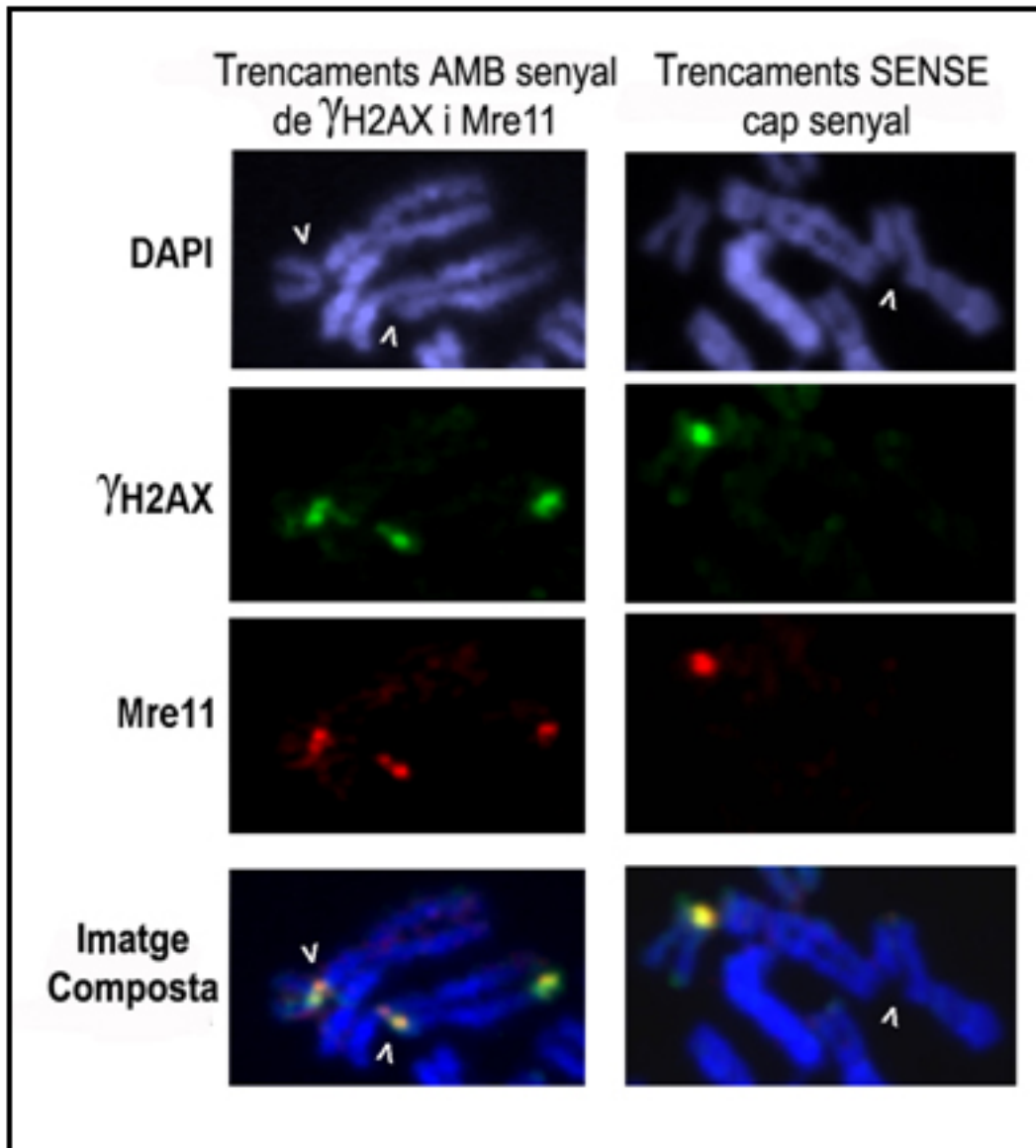
Donat que ATM és una proteïna essencial en la transmissió de la senyal del dany i que en la seva absència hi ha trencaments de l'ADN que romanen trencats, ens vàrem preguntar si la deficiència en ATM donava lloc a una manca de reparació o bé a una manca de detecció d'aquesta fracció de trencaments. Per dur a terme aquest treball vàrem utilitzar cèl·lules immortalitzades provinents de pacients AT que van ser exposades a dosis relativament baixes de radiacions ionitzants (1Gy). Després de la irradiació, les cèl·lules van deixar dividir una o dues vegades i, passat aquest temps, es van localitzar els trencaments no reparats en metafases, on el material genètic està altament condensat en forma de cromosomes i per tant els trencaments són visibles al microscopi.

Mitjançant immunofluorescència (detecció fluorescent de proteïnes) vàrem avaluar la presència de #H2AX en els cromosomes trencats. La histona H2AX forma part del conjunt de proteïnes sobre les que s'empaqueta la doble hèlix de l'ADN i és immediatament fosforilada -esdevenint #H2AX- quan aquest pateix un dany. La presència d'aquesta proteïna és importantíssima per tal que altres proteïnes de reparació siguin reclutades al lloc del dany. Els resultats obtinguts van demostrar que : (1) tal i com esperàvem, les cèl·lules AT acumulen més trencaments que les cèl·lules normals i (2), tot i que molts d'aquests cromosomes danyats tenen #H2AX en el punt de trencament, una fracció important -aproximadament el 26%- (Figura 1 i 2) no estan marcats amb #H2AX.



**Figura 1 i Figura 2.-** A l'esquerra, **cromosomes trencats amb i sense #H2AX**; els cromosomes mitòtics presenten 4 telòmers (els seus extrems naturals), 2 a la part proximal i 2 a la part distal i en la imatge han estat localitzats i marcats en vermell. Quan un cromosoma es trenca, només s'observen 2 telòmers (\*). A la dreta de cada imatge hi ha un dibuix esquemàtic d'aquests cromosomes trencats, els seus telòmers i la presència o absència de #H2AX (verd). Als cromosomes trencats de l'esquerra (\*) hi ha #H2AX en el lloc del trencament, mentre que al de la dreta (\*) no n'hi ha. A la dreta, **frequència de trencaments en cèl·lules AT i normals**; les cèl·lules AT acumulen més trencaments que les cèl·lules normals, i a més, un de cada quatre trencaments NO presenten #H2AX (part vermella de la barra).

L'absència de #H2AX en aquests trencaments suggereix que, probablement, tampoc hi estiguin presents altres proteïnes de reparació. Per tal de comprovar amb certesa aquesta hipòtesi es va realitzar una doble immunofluorescència de #H2AX i MRE11. MRE11 és una proteïna detectora del dany en l'ADN i una de les primeres en ser reclutades al lloc del trencament. Per tant, si la maquinària funcionés correctament, els trencaments pendents de ser reparats haurien d'estar marcats amb les dues proteïnes utilitzades. Els resultats van demostrar que, efectivament, en absència de #H2AX tampoc hi ha reclutament d'MRE11 als trencaments (Figura 3).



**Figura 3.- Cromosomes trencats amb i sense #H2AX i MRE11.** Els caps de fletxa indiquen cromàtides trencades. Els trencaments de l'esquerra tenen #H2AX (verd) i MRE11 (vermell), mentre que en la cromàtide trencada de la dreta no podem localitzar cap de les dues proteïnes.

Aquests resultats demostren que les cèl·lules AT acumulen més trencaments que les cèl·lules normals a llargs temps després d'haver estat irradiades. A més a més, una quarta part dels trencaments presents en cèl·lules AT no estan sent correctament detectats -degut a l'absència de #H2AX i d'MRE11- i apareixen com trencaments invisibles per la DDR. Molt probablement aquesta invisibilitat afavoreix la seva persistència en el temps i incrementa les possibilitats de que, més tard, siguin reparats de manera incorrecta. Aquesta reparació incorrecta de trencaments està molt relacionada amb inestabilitat cromosòmica i acumulació de mutacions, processos íntimament implicats amb l'inici de la carcinogènesi.

Finançament: Unió Europea (FI-CT-2003-508842); Fundació La Marató (TV32005-050110); Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2004-20372-E, SAF2006-01653); Instituto de Salud Carlos III (RD06/0020/1020); Generalitat de Catalunya (2005SGR-00437).

[Més informació.](#)

Marta Martín Flix

Departament de Biologia Cel·lular, de Fisiologia i d'Immunologia

Institut de Biotecnologia i Biomedicina (UAB)

"Breaks Invisible to the DNA Damage Response Machinery Accumulate in ATM-Deficient Cells". Marta Martín, Mariona Terradas, George Iliakis, Laura Tusell, Anna Genescà. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009, 48(9):745-59.

